

Title	家兎リゾチーム中和抗体の多様性
Author(s)	今西, 道子
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	http://hdl.handle.net/11094/29543
DOI	
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/repo/ouka/all/>

【 1 】

氏名・(本籍)	今 西 道 子 いま にし みち こ
学位の種類	医 学 博 士
学位記番号	第 1 2 2 4 号
学位授与の日付	昭 和 4 2 年 4 月 2 8 日
学位授与の要件	医 学 研 究 科 病 理 系 学位規則第 5 条第 1 項該当
学位論文名	家兎リゾチーム中和抗体の多様性
論文審査委員	(主査) 教 授 天野 恒久 (副査) 教 授 山村 雄一 教 授 米田 正彦

論 文 内 容 の 要 旨

〔目 的〕

我々の教室では天然蛋白抗原に含まれる抗原決定群構造の解析のため、比較的低分子でアミノ酸配列のわかっているニワトリ卵白リゾチーム (HL) をモデルとし、家兎抗 HL 抗体の解析を行うことにより各抗原決定群の性格化を目標としてきた。あきらかに抗 HL 中和抗体に特異性において異ると考えられるものの存在することが示唆されたのでその各抗体の免疫過程における消長、抗体による HL 活性中和の機作、あるいは物理化学的性状を明らかにする一方これら抗体の生物学的活性を考えるのに重要と思われる結合恒数の求め方を工夫する。

〔方法ならびに成績〕

HL の酵素活性は基質として *Micrococcus lysodeikticus* 菌体を用いた場合抗 HL 血清によって完全に中和される。教室の齋木は HL 中和抗体について HL のメチルエステル化物 (HLME)、アヒル卵白リゾチーム (DL) 及びそのメチルエステル化物 (DLME) を用いた交叉反応から次の 3 種の中和抗体を分類してきた。① DLME で吸収されるもの (HL, HLME, DL, DLME と反応) — C 型中和抗体 ② HLME で吸収されるが DLME では吸収されないもの (HL, HLME と反応) — B 型中和抗体 ③ HLME で吸収されないもの — (HL, DL と反応) — A 型中和抗体

1) 各中和抗体の中和力価の比率を HL の場合と DL の場合について先に教室の齋木が検討したが合理的な解釈がえられなかった。その原因は次のような抗体のあるためであることが明らかになった。ある抗血清 (LF-32) を DLME で吸収すると DL に対する中和抗体は 50% 吸収されるのに HL 中和抗体には全然変化がなかった。LF-32 には C 型中和抗体はなく、DLME で吸収されたのは homo の HL には全く非中和性で、hetero の DL にのみ中和性に働く抗体である。この抗体に対応する抗原決定群は HL にも DL にもあってその部位は HL の酵素活性 (基質である菌体への吸着

を含めて)には無関係だが DL では何らかの酵素-基質反応に関与するところにあるものと推定できる。

2) 一蛋白分子に何種類かの特異性の異なる決定群のあることがわかったがこれらが皆酵素活性中心にあるか否かわからない。一方の可能性として抗体による中和機作には結合した抗体による立体障害も考えねばならない。そこで基質である菌体をより小さくして抗体の中和能を菌体の場合と比較検討した。菌体、菌体細胞よりペプチド部分を除去した可溶性基質、これをさらに HL で限定分解したもの、この3者を基質として抗血清の中和能をしらべた。基質が小さくなるに従い一定量の HL を中和する抗血清の中和力価は減少したが A 型抗体による中和力価はいずれの基質を用いても変化しないことが明らかになった。このことから A 型抗体は酵素活性にもっとも密接に関係した場所にある抗原決定群に対応するものであろうと考えられる。

3) 単一抗原に対するこれら特異性の異なる抗体がどのように産生されるかを武田薬工の均一系兎を用いて免疫後各時期での中和抗体の比率の変動をしらべた。抗原量を毎回 1 mg, 10mg, 50mg の group にわけ Freund incomplete adjuvant と共に約50日間隔で3回免疫した。各時期での中和抗体の比率は著明に異り特に A 型抗体は免疫初期に非常に多い。

これら中和抗体の物理化学的性状をしらべるために14日目の抗血清を Sephadex G-200 の gel-filtration で分画し中和能の所在を見たが、7 S 分画にのみ認められ7 S より大きい分画に活性はなかった。又電気泳動や DEAE-cellulose chromatography でしらべると中和抗体は rG 分画に広く分布しとくに r_1 領域に50%以上見られる。これは免疫初期でも同じで、抗体産生の際はそれほど限局されたものではないと考えられる。

4) このような HL-抗 HL 系で定量沈降反応を行うと加えた抗原は全部沈降物に入っているのに等量域の上清に尚中和抗体の10~20%が残存する。この中和抗体は殆んど A 型抗体でこれは抗体過剰域から等量域まで沈降物に入りえない。この場合均一と思われる HL の中に活性のないものがありしかもいくつかの決定群は共通にもっているようなものの混在がある(少なくとも A 型抗体は活性のある HL と反応する抗体故)ためとも考えられるが、この可能性は現在のところ実証できないので一方の説明として結合恒数の差を考え、HL のみを完全に通過させる膜を用いて、Goldberg, 天野等の理論をもとに透析平衡法により結合恒数を求める方法を検討した。

〔総括〕

1) HL 抗体には homo の HL に非中和性で hetero の DL に中和性に働くような抗体が含まれている。

2) 抗体による HL 活性の中和には立体障害が含まれ、酵素活性にもっとも関係した場所に結合するのは A 型抗体である。

3) 免疫時期、抗原量によって産生される A, B, C 型抗体の比率は著明に異り、特異性と抗体の大きさや荷電との関連性は余り認められない。

4) HL~抗 HL 系の結合恒数を求める方法を試み、全体では大体 10^6 、等量域上清で 10^5 の Order にあることがわかった。

論文の審査結果の要旨

ニワトリ卵白リゾチーム (HL) に対する家兎抗血清中の中和抗体には特異性の異なると考えられるものがある。抗 HL と種々の交叉反応を示すアヒル・リゾチーム (DL) およびそれらのメチルエステル化物を用いた吸収実験から A, B, C 型中和抗体に分類してきた。

しかしこれら 3 種の中和抗体以外にヘテロの DL を中和し、ホモの HL を中和しないような抗体も含まれることをあきらかにした。

A, B, C 型中和抗体に対応する抗原決定基はいずれも HL 分子にあると考えられるが、全部が HL の酵素活性に関連した部位にあるかどうかを検討するために、基質である菌体より可溶性低分子の基質を調整し基質が小さくなるほど抗体の中和能が減少すること、A 型抗体の中和能は基質の大きさに影響されないことから、抗体による中和機作には立体障害が含まれ A 型抗体に対応する決定基は酵素活性に関係の深い部位にあることを示した。

単一抗原に対する抗体ではあるがこれらの特異性の異なる抗体は一様に平行して産生されず、抗原量、免疫後の時期により含まれる比率が著明に異なることがあきらかになった。とくに免疫初期には A 型抗体が非常に多くこれは 19S 抗体ではない。

一方抗原抗体反応解析の手段として HL 系につき Goldberg の理論をもとに平衡透析法について検討した。

以上のごとくリゾチームの免疫化学的研究に新知見をえたことは有意義のものと考えられる。